

BOLSA SECA CALDO HALF-FRASER**Apresentação**

Bolsa de 5 litros com 277,5g ou bolsa de 20 litros com 1,110kg de meio de cultura Half-Fraser desidratado estéril.

Acompanha suplemento citrato férrico estéril e um filtro microbiológico de 0,22µm autoclavável não estéril.

Não acompanha equipamento de bombeamento de água para encher a bolsa.

Método de esterilização

Irradiação gama.

Aplicação

Meio de cultura utilizado no pré-enriquecimento para o isolamento de *Listeria monocytogenes*.

Princípio

As espécies de *Listeria* hidrolisam a esculina formando esculina que, por sua vez, reage com íons ferro produzindo o escurecimento do meio. A adição do citrato férrico de amônio favorece o crescimento de *Listeria monocytogenes*. O cloreto de lítio inibe o crescimento de *Enterococcus* que pode hidrolisar a esculina. O crescimento de bactérias acompanhantes é inibido pela adição de ácido nalidíxico e acriflavina.

Modo de usar

Antes de hidratar a bolsa, esterilize o filtro microbiológico por calor úmido à 121°C por 15 minutos. O filtro pode ser autoclavado 10 vezes. A produção do meio requer o uso de um equipamento de bombeamento de água, como uma bomba peristáltica. Seguir o procedimento abaixo para hidratar e suplementar a bolsa, utilizando técnica asséptica de manipulação para evitar contaminação do meio de cultura.

Opção 1 para suplementação da bolsa de Half-Fraser.

1. Dentro de uma capela de fluxo laminar, remova a bolsa seca de dentro da embalagem.
2. Agite a bolsa para permitir a distribuição do pó. Coloque a bolsa sobre a superfície do fluxo.
3. Com o auxílio de uma seringa e agulha estéreis, adicione ao frasco de suplemento citrato férrico 50ml de água deionizada/destilada estéril.
4. Abra a tampa verde e remova o lacre da bolsa e volte a fechar a tampa.
5. Em seguida, hidrate a bolsa de Half-Fraser com 19,95L (para bolsas de 20L) ou com 4,95L (para bolsas de 5L), seguindo os passos abaixo:
 - 5.1. Cuidadosamente, retire a tampa do conector da mangueira da bolsa. Coloque a tampa dentro de uma placa de Petri estéril para evitar contaminação.
 - 5.2. Conecte a mangueira da bolsa no filtro microbiológico estéril.

- 5.3. Conecte o filtro em um equipamento de bombeamento de água purificada.
- 5.4. Abra a válvula vermelha da bolsa e a válvula do filtro para permitir a saída de ar.
- 5.5. Ligue o equipamento de bombeamento de água para permitir o enchimento da bolsa. Assim que a água entrar na bolsa, feche a válvula do filtro.
- 5.6. Enquanto ocorre o enchimento, agite a bolsa para permitir a dissolução do pó.
- 5.7. Após a filtração do volume total de água, desligue o equipamento. Feche a válvula vermelha, desconecte o filtro da mangueira da bolsa e tampe o conector da mangueira.
6. Agite a bolsa para homogeneizar o meio.
7. Abra a tampa verde e com o auxílio de uma seringa/agulha estéreis, adicione os 50ml de suplemento para a bolsa de Half-Fraser assepticamente, em seguida agite para homogeneizar.
8. Dispense o meio em frascos ou tubos com o volume adotado pelo laboratório.

Nota 1: Utilizar uma seringa/agulha estéreis para cada bolsa hidratada.

Opção 2 para suplementação da bolsa de Half-Fraser.

1. Dentro de uma capela de fluxo laminar, remova a bolsa seca de dentro da embalagem.
2. Agite a bolsa para permitir a distribuição do pó. Coloque a bolsa sobre a superfície do fluxo.
3. Encher um recipiente com 20L (para bolsas de 20L) ou com 5L (para bolsas de 5L) de água deionizada/destilada.
4. Com o auxílio de uma tesoura/pinça, abra o frasco âmbar contendo o suplemento citrato férrico.
5. Adicione o suplemento de citrato férrico em pó ao recipiente com água, em seguida homogenizar até completa dissolução.
6. Em seguida, hidrate a bolsa de Half-Fraser utilizando a água já suplementada com o citrato férrico, seguindo os passos abaixo:
 - 6.1. Cuidadosamente, retire a tampa do conector da mangueira da bolsa. Coloque a tampa dentro de uma placa de Petri estéril para evitar contaminação.
 - 6.2. Conecte a mangueira da bolsa no filtro microbiológico estéril.
 - 6.3. Conecte o filtro em um equipamento de bombeamento de água purificada.
 - 6.4. Abra a válvula vermelha da bolsa e a válvula do filtro para permitir a saída de ar.
 - 6.5. Ligue o equipamento de bombeamento de água para permitir o enchimento da bolsa. Assim que a água entrar na bolsa, feche a válvula do filtro.
 - 6.6. Enquanto ocorre o enchimento, agite a bolsa para permitir a dissolução do pó.
 - 6.7. Após a filtração do volume total de água, desligue o equipamento. Feche a válvula vermelha, desconecte o filtro da mangueira da bolsa e tampe o conector da mangueira.
7. Agite a bolsa para homogeneizar o meio.

8. Dispense o meio em frascos ou tubos com o volume adotado pelo laboratório.

Nota 2: Escolher a opção de suplementação que melhor atenda às necessidades de utilização do laboratório.

Nota 3: Não recomendamos a adição do suplemento citrato férrico diretamente na bolsa ainda não hidratada.

Controle de Qualidade

Teste	Resultado
Esterilidade	Ausência de crescimento microbiano
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	Crescimento bom com hidrólise da esculina
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crescimento inibido sem hidrólise da esculina
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Pouco crescimento sem hidrólise da esculina
Aspecto visual	Meio desidratado: pó fino, bege, de livre escoamento, homogêneo, podendo apresentar pontos escuros. Solução 5,55%: meio líquido, amarelo ouro a âmbar médio, límpido a levemente opalescente, podendo apresentar leve precipitado.
pH à 25°C	7,2 ± 0,2

Interpretação dos resultados

Os tubos que apresentarem o escurecimento do meio são positivos e devem ser feitas subculturas a partir destes tubos em placas de ágar seletivo para *Listeria* (ALOA). Os tubos que conservarem a cor original amarelo ouro são considerados negativos.

Precauções e cuidados especiais

A água utilizada no enchimento da bolsa deve atender ao grau de água utilizada no preparo de meios de cultura. Assim que a água começar a entrar na bolsa verifique se não há formação de pressão de ar no filtro. Se houver formação dessa pressão, rapidamente abra e feche a válvula do filtro para permitir a saída do ar. Produto destinado apenas para o uso em diagnóstico *in vitro*.

Uso restrito por profissionais. Não inalar ou ingerir.

Não utilizar o produto fora do prazo de validade, com sinais de contaminação e com alterações de cor. Na presença de contaminação o produto deve ser imediatamente descartado.

Não utilizar o produto com embalagem rompida ou violada.

Conservação

Conservar entre 10-35°C em local seco e ao abrigo da luz.

Validade

30 dias a partir da data de fabricação para o meio hidratado armazenado à 2-25°C.

Descarte do produto

Após o uso, o produto deve ser tratado na unidade geradora antes da disposição final ambientalmente adequada, conforme as regulações oficiais.

Garantia da Qualidade

A bioBoaVista garante a qualidade de seus produtos desde que sejam utilizados conforme as respectivas instruções de uso e em referências nacionais e internacionais. A bioBoaVista não se responsabiliza pela utilização de seus produtos para outra finalidade diferente da descrita e aprovada pela companhia. Todos os diagnósticos clínicos devem ser analisados em conjunto com evidências clínicas e não apenas com resultados laboratoriais.

Referências

1. Becton, Dickinson and Company. Difco & BBL Manual. Manual of Microbiological Culture Media, 2nd ed., 2009.
2. ISO 11133:2014. Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
3. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos, Livraria Varela, 3ª ed., 2007.
4. Merck Microbiology Manual. 12th ed.